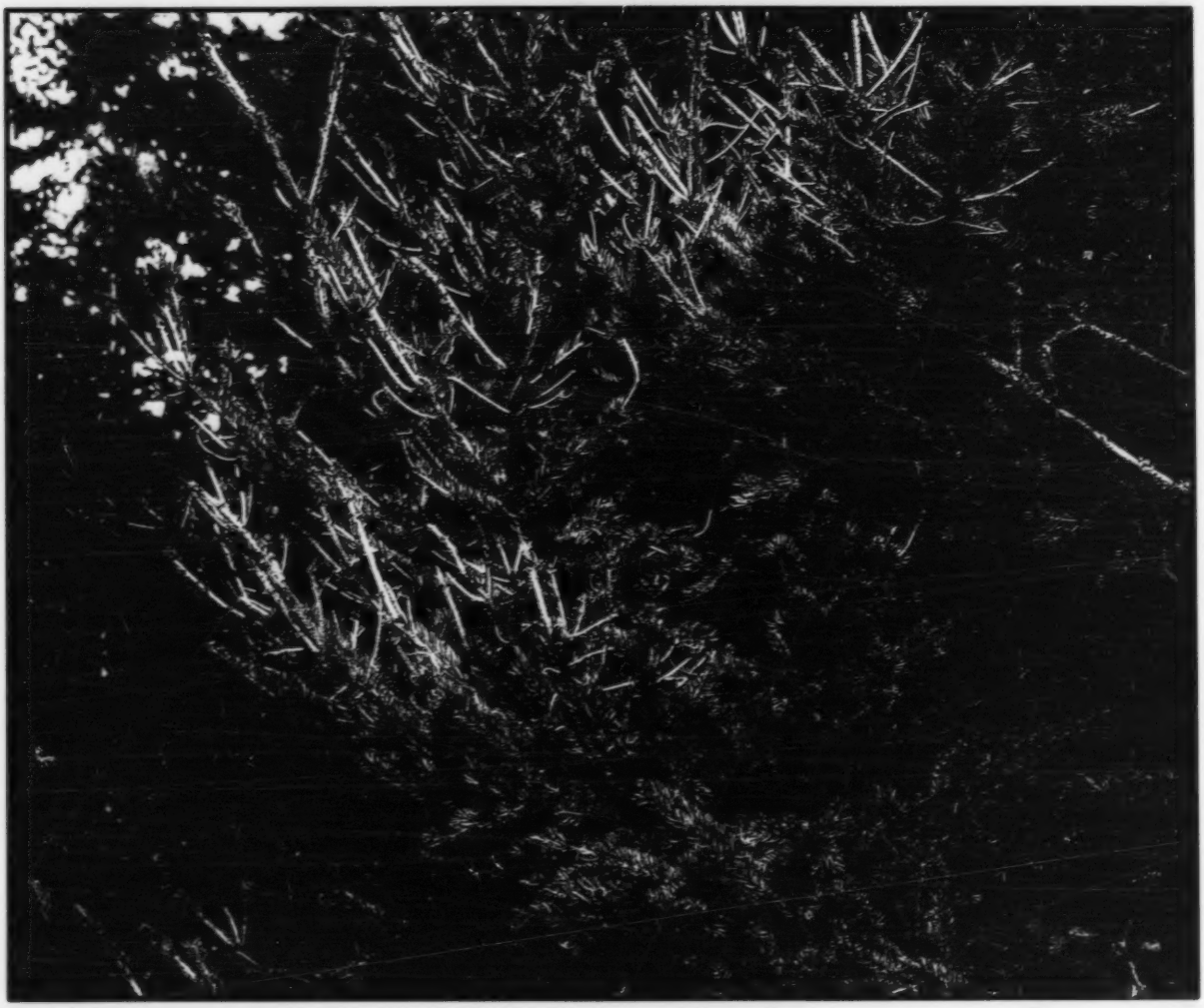
# Aerial Application of High Dosages of Nuclear Polyhedrosis Virus to Early Instar Spruce Budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.)

William J. Kaupp, J.C. Cunningham & B.L. Cadogan
Forest Pest Management Institute • Information Report FPM-X-85



Forestry Canada Forêts Canada

Canada

# AERIAL APPLICATION OF HIGH DOSAGES *of* NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS TO EARLY INSTAR SPRUCE BUDWORM, *Choristoneura fumiferana (Clem).*

William J. Kaupp, John C. Cunningham & B. Leo Cadogan
Forest Pest Management Institute
Forestry Canada

FPM-X-85

1989

91-05862/

© Minister of Supply and Services, Canada, 1990
Catalogue Number F046-16/85
ISBN 0-662-58314-0
ISSN 0833-5540

—

*Additional copies of this publication are available free of charge from:*

Information Services
Forest Pest Management Institute
Forestry Canada
1219 Queen St. E.
Sault Ste. Marie, Ont.
Canada P6A 5M7

—

*Copies or microfiche of this report are also available from:*

Micromedia Ltd.
Place du Portage
165, rue Hotel-de Ville
Hull, Quebec J8X 3X2

## TABLE *of* CONTENTS


**INTRODUCTION** ..... 1

**MATERIAL AND METHODS** ..... 1

*The Virus* ..... 1

*The Study Area and Plot Layout* ..... 1

*Larval Development and Tree Phenology* ..... 1

*Formulation and Spray Application* ..... 3

*Application Conditions* ..... 3

*Deposit Sampling* ..... 4

*Assessment of Spray Efficacy: Population Reduction* ..... 4

*Assessment of Spray Efficacy: Defoliation* ..... 5

*Statistical Analysis* ..... 5

**RESULTS** ..... 5

*Deposit Analysis* ..... 5

*Incidence of Infection* ..... 6

*Population Reduction* ..... 6

*Defoliation* ..... 7

**CONCLUSION AND DISCUSSION** ..... 7

**REFERENCES** ..... 9

Kaupp, W.J.; Cunningham, J.C.; Cadogan, B.L. 1989. Aerial application of high dosages of nuclear polyhedrosis virus to early instar spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.). For. Can., For. Pest Manage. Inst., Sault Ste. Marie, Ont., Canada Inf. Rep. FPM-X-85.

## ABSTRACT

Two 20 ha plots located in the Gaspé region of Quebec were treated with spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.), nuclear polyhedrosis virus (NPV). Plot 1 received a single application of $1.15 \times 10^{12}$ polyhedral inclusion bodies (PIBs)/ha in an emitted volume of 4.5 L/ha when second instar larvae were emerging from hibernacula. Plot 2 received two applications of NPV. The first treatment of $3.44 \times 10^{12}$ PIBs/ha was applied as second instar larvae were emerging from hibernacula; the second treatment of $2.3 \times 10^{12}$ PIBs/ha was applied 26 days later, when balsam fir buds had flushed and 94% on the larvae were in their third instar. Both treatments were applied in an emitted volume of 4.5 L/ha.

Assessment of the population reduction due to treatment and defoliation showed no significant differences ($p = 0.05$) between the two treated plots and an untreated check plot. However, incidence of NPV infection, confirmed by microscopic diagnosis of smeared larvae, reached $22.9 \pm 18.5\%$ of larvae infected in plot 2, which was significantly higher than either plot 1 ($10.3 \pm 13.7\%$) or the check plot ($6.9 \pm 14.4\%$). Incidence of infection with the microsporidian parasite, *Nosema fumiferanae*, remained relatively stable in all three areas with approximately 60% of the larvae infected. NPV infection in the check plot was attributed to a low level, persistent, naturally occurring virus.

These dosages of NPV were unsuccessful in protecting foliage or achieving insect control by initiating an epizootic. Early application of NPV does not appear to be a viable control strategy. Even higher dosages of NPV may be required to initiate epizootics in spruce budworm populations.

## RÉSUMÉ

2 parcelles de 20 ha situées dans la région de Gaspé au Québec ont été traitées a l'aide de virus de la polyédrose nucléaire (VPN) pour combattre la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* [Clem.]). La parcelle i a été soumise a une seule pulvérisation de $1{,}15 \times 10^{12}$ corps d'inclusion polyédrique (CIP)/ha à raison de 4,5 L/ha, au moment ou les larves au deuxième stade émergeaient de leur hibernacle. La parcelle 2 a été soumise a deux pulvérisations de virus; la première, de $3{,}44 \times 10^{12}$ CIP/ha, a été également effectuée au moment ou les larves au deuxième stade émergeaient de l'hibernacle et la deuxième, de $2{,}3 \times 10^{12}$, 26 jours plus tard, après l'eclosion des bourgeons de sapin baumier au moment ou 94% des larves en étaient a leur troisième stade. Les deux traitements ont été appliques à raison de 4,5 L/ha.

Après évaluation de la diminution de la population attribuable au traitement et de la défoliation, il est apparu qu'il n'y avait aucune différence significative ($p = 0{,}05$) entre les deux parcelles traitées et une parcelle-témoin non traitée. Toutefois, l'infection par les virus, confirmée par un examen des larves (frottis) au microscope, atteignait $22{,}9 \pm 18{,}5$ % des larves dans la parcelle 2, ce qui est beaucoup plus que dans la parcelle 1 ($10{,}3 \pm 13.7$ %) ou dans la parcelle-témoin ($6.9 \pm 14{,}4$ %). L'incidence de l'infection par le parasite microsporidien *Nosema fumiferanae* est demeurée relativement stable dans les trois parcelles, ou environ 60 % des larves ont été infectées. L'infection par les VPN dans la parcelle-témoin a été attribuée a de faibles concentrations naturelles et persistantes des virus.

Ces doses de virus n'ont pas réussi a protéger le feuillage ou à éliminer les insectes en déclenchant une épizootie. La pulvérisation de virus aux premiers stades larvaires de la tordeuse ne semble donc pas constituer une stratégie de lutte viable. Il se pourrait qu'il faille utiliser des doses de virus plus fortes encore pour provoquer des épizooties dans les populations de tordeuses des bourgeons de l'épinette.

## INTRODUCTION

Nuclear polyhedrosis virus, (NPV) was applied to populations of spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.), between 1959 and 1981 to evaluate such parameters as timing of application, dosage and composition of formulation (Cunningham and Howse 1984; Cunningham 1985). This research indicated that NPV offers no simple solution to the spruce budworm problem in Canada. Evidence suggests that although spruce budworm NPV becomes established in the treated population, it neither spreads outside the research area by way of epizootic nor does it persist from one year to the next to cause sufficient insect mortality. Studies of naturally occurring NPV epizootics in some sawflies indicate that very large quantities of virus are released into the environment and this affects both the epizootic potential and the persistence of the virus from one year to the next (Kaupp 1983). No NPV epizootic has been observed in spruce budworm populations and, presumably, any NPV present persists at low levels. Hence, we decided to treat early instar spruce budworm with substantial dosages of NPV at emergence and again at budflush in an attempt to create a disease epizootic to provide some degree of population reduction and foliage protection.

## MATERIALS AND METHODS

### *The Virus*

The spruce budworm NPV was produced at FPMI. Fourth instar spruce budworm larvae were infected with NPV by surface treatment of artificial diet (McMorran 1965), and reared until moribund (Otvos *et al.* 1989). Infected larvae were harvested, frozen, lyophilized and ground to a fine powder using a commercial blender. This powder, containing spruce budworm NPV, was the active ingredient used in this spray operation.

Some of the virus was produced by infecting western spruce budworm, *Choristoneura occidentalis*, with eastern spruce budworm NPV because of the large quantity of material required. This species is easier to handle because it produces less webbing in rearing containers. Virus harvested from these insects is identical to the spruce budworm NPV used for inoculation. All preparations were standardized by determining the number of polyhedral inclusion bodies per gram (PIBs/g) of dry material using a dry counting procedure (Wigley 1980).

### *The Study Area and Plot Layout*

Suitable infestations of spruce budworm were located in the Gaspé region of the province of Québec. Two treated blocks (20 ha each) and one check area were located on forest access roads approximately 15 km south east of St. Fabian, Que. (Fig. 1). The treated blocks were approximately 5 km from provincial spray blocks No. 109, 601 and 201.

Fifteen balsam fir 8-12 m tall, were located on each of three sample lines running perpendicular to proposed flight lines in each plot (Fig. 2). Kromecote cards were placed along cleared sample lines, and near each sample tree, to monitor spray deposit. During spray applications, plot boundaries and spray swaths were marked with large red weather balloons. A check area consisting of 45 balsam fir trees, was established nearby.

### *Larval Development and Tree Phenology*

Larval development was assessed by determining the instar of all larvae found on 5 branches collected periodically from each plot. Time of emergence of larvae onto the branches was determined by visual

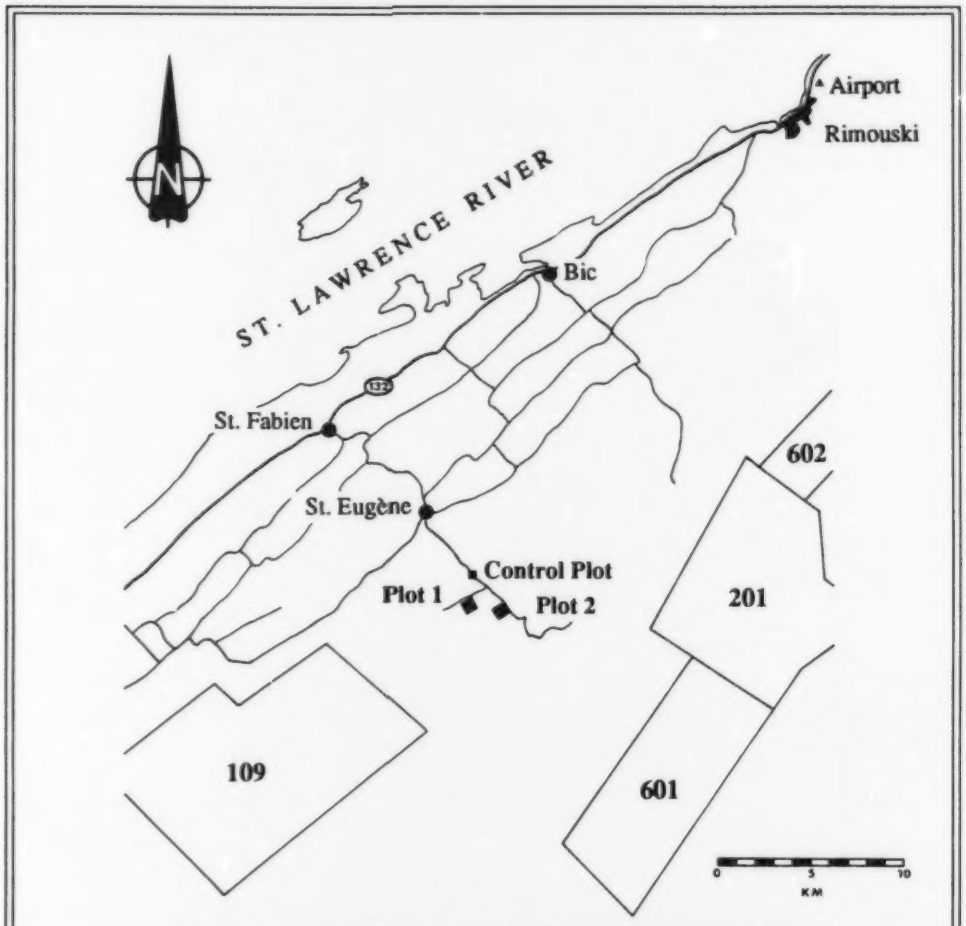



*Figure 1.* Location of the two treated plots and single check plot.

inspection of foliage throughout the plot. Branches were also examined for budflush, defined as the time at which 90% of the bud caps had dropped from the new shoots.

*Formulation and Spray Application*

A dosage of $1.0 \times 10^{12}$ PIB/ha, the highest dosage ever applied to budworm populations, was selected as a treatment for plot 1. It was presumed that the budworm emerging from the hibernacula were more susceptible to NPV than older larvae, and would easily contract infection when mining NPV-contaminated needles. Death of these larvae would provide inoculum to initiate an NPV epizootic in the budworm population. It was intended to treat plot 2 with three times this dosage ($3.0 \times 10^{12}$ PIB/ha) as larvae were emerging and again with twice this amount ($2.0 \times 10^{12}$ PIB/ha) at budflush in an attempt to create an epizootic by inundating the environment with NPV.

The powder was applied in a 25% emulsifiable oil formulation. The lyophilized insect material was mixed with Dipel 88 blank gelled oil carrier (Abbott Laboratories) using a Kalish turbo homogenizer,

and then strained through a 40 mesh sieve. Prior to spray application the oil-virus mixture was added to an appropriate quantity of water and pumped into the aircraft hopper. Erio Acid Red XB 400 was added at 1 g/L as a marker for deposit analysis. Tank samples were collected to confirm the PIB concentration of each formulation.

A Cessna 188B Agtruck equipped with 4 AU 3000 Micronair rotary atomizers was used for the applications. Variable restrictor units were set at 4 and blade angle was set at 30° to achieve an application rate of 4.5 L/ha. The aircraft flew at a height of 18-20 m above tree top level; the swath width was 30 m. Meteorological data were collected during the spray operation.

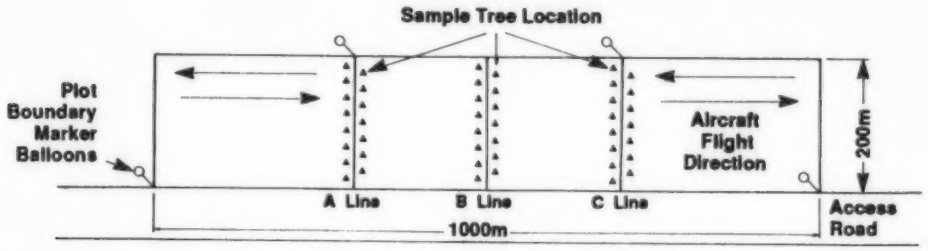



*Figure 2.* The 20 ha plots showing the location of 3 sample lines with 15 trees/line; sample lines were perpendicular to aircraft flight lines.

### *Application Conditions*

Plot 2 received the first application of NPV between 1832 and 1836 h on May 14th when second instar budworm were observed wandering over the foliage in low numbers. Wind speed averaged 9 km/h, with 63% RH and a ground temperature of 17°C. Analysis of tank samples confirmed application of $3.44 \times 10^{12}$ PIBs/ha. Plot 1 was sprayed with a dosage of $1.15 \times 10^{12}$ PIBs/ha that same evening between 1921 and 1926 h, with 76% RH and a wind speed of 2 km/h. On June 9, 26 days later, plot 2 received a second application of $2.3 \times 10^{12}$ PIBs/ha when balsam-fir buds had flushed and 94% of the larvae were in third instar. Virus was applied between 2035 and 2041 h with 62% RH and a windspeed of 3 km/h. The ground temperature was 10°C.

### *Deposit Sampling*

Kromekote cards and glass slides on aluminum backings, were placed on stakes beside each sample tree (Randall 1980). After allowing 30 minutes for spray droplets to impact, these sampling devices were collected from the spray blocks. The Kromekote cards were analyzed to characterize the spray cloud, while deposition on the glass slides was analyzed to confirm the application rate (Retnakaran *et al.* 1973).

### *Assessment of Spray Efficacy: Population Reduction*

A pre-spray sample, collected May 14, and 4 post-spray samples, collected June 5, 16, 23 and 30 respectively, were used to determine population reduction due to treatment. To determine the number of early instar spruce budworm present, two 90-cm branches were removed from the mid-crown of

*Table 1.* Percentage spruce budworm larvae found to be infected with NPV in the pre-spray and four post-spray collections. Numbers in parenthesis indicate sample size.

| | May 14 (pre-spray) | June 5 | June 16 | June 23 | June 30 |
|---|---|---|---|---|---|
| Plot 1 | 1.38 ± 1.33* (7880) | 5.5 ± 5.24 (1637) | 5.5 ± 5.4 (952) | 4.3 ± 4.9 (755) | 10.3 ± 13.7 (647) |
| Plot 2 | 1.09 ± 1.29 (7022) | 4.13 ± 3.61 (9198) | 2.7 ± 4.5 (2872) | 15.1 ± 16.2 (1430) | 22.9 ± 18.5 (1142) |
| Check | 1.74 ± 1.66 (7498) | 1.53 ± 1.42 (8608) | 0.41 ± 0.87 (2219) | 1.9 ± 3.9 (1884) | 6.86 ± 14.4 (1246) |

* represents standard deviation.

each sample tree for the pre-spray and first post-spray samples, and placed in emergence boxes (Randall *et al* 1981). The number of second instar budworm trapped in these boxes represented the number of budworm expected to move to the outer limits of the branches later in the season. These were assessed by subsequent samples.

The last three post-spray samples consisted of two 45-cm branches taken from each tree and threshed inside cardboard drums to remove budworm larvae (Martineau and Benoit 1973). Total number of larvae obtained from each branch examined in the pre- and post-spray samples was recorded and averaged to give a population estimate for each tree. Treated plot and check plot population densities were calculated by averaging data from the 45 sample trees.

Incidence of NPV was assessed by the examination of stained insect smears for the presence of PIBs. Larvae collected from both treated plots and the check area were aseptically smeared on glass slides using toothpicks, and the smears were allowed to air dry. These smears were stained in 1.5% w/w solution of Naphthalene Black 12B in 40% glacial acetic acid at 40-45°C. After 5 minutes the slides were removed, rinsed in tap water and air dried. Each smear was examined using oil immersion optics. Smears containing the microsporidian parasite, *Nosema fumiferanae*, were also recorded.

All larvae found in samples from plot 2 and the check area were diagnosed for NPV infection and the presence of the microsporida. In plot 1, all larvae found in the pre-spray sample, and approximately 20 larvae from each sample tree in the post-spray collections were examined. All infection results were expressed as averages for the plot along with the standard deviations.

### *Assessment of Spray Efficacy: Defoliation*

Two branches were collected from each tree in the treated plots and the check area. Defoliation due to spruce budworm was estimated using a modification of the Fettes' method (Cadogan *et al* 1984).

### *Statistical Analysis*

Tests of significance ($p = 0.05$) were conducted using the pooled variance method described by Snedecor and Cochran (1967).

## RESULTS

### *Deposit Analysis*

Examination of the Kromekote cards indicated that plot 1 received an average of 34±16 drops $cm^2$, with a VMD of 57mm and an NMD of 18mm. Of the two sprays applied to plot 2, the first application was best providing 9±9 drops/$cm^2$ with a VMD and NMD of 67mm and 20mm, respectively. The second application provided 4±4 drops/$cm^2$ with a VMD of 69mm and NMD of 51mm. Spectrophotometric analysis of the deposit on the glass slides indicated that relatively low deposits were obtained on both plots, with plot 1 receiving 0.54±0.35 L/ha and plot 2 receiving 0.16±0.23 L/ha for the first and 0.16±0.14 L/ha for the second application, respectively.

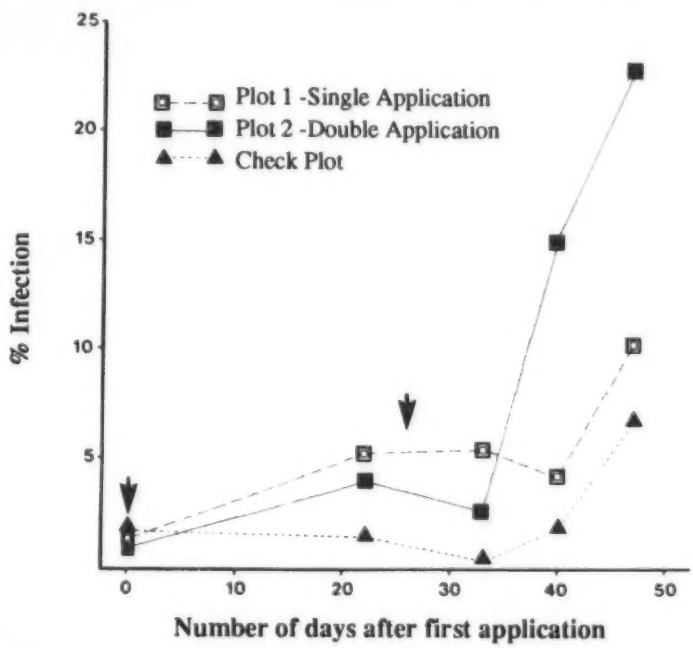



*Figure 3.* Incidence of NPV infection observed in spruce budworm larval samples collected from plot 1, plot 2 and the check plot. Arrows indicate spray applications.

### *Incidence of Infection*

A low incidence of naturally occurring NPV was found in the pre-spray samples of larvae collected from the two treated plots and the single check plot. In plots 1 and 2, 1.38±1.33% and 1.09±1.29% of the emerging second instar larvae were found to be infected with NPV respectively, while 1.74±1.66% infection was observed in larvae collected from the check plot (Table 1, Fig. 3). These values are not significantly different. Naturally occurring NPV continued to be observed in the check area during three consecutive post-spray samples at significantly lower levels than found in the treated plots. In the

final sample, collected 47 days post-spray, 6.86±14.4% of the insects in the check area were infected with naturally occurring NPV.

Incidence of NPV infection in the treated plots was found to be significantly higher than in the untreated check area, with the exception of the last two samples in plot 1. The incidence of infection in the single and double applications was only significantly different in the last two samples (Fig. 3).

*Table 2.* Percentage spruce budworm larvae found to be infected with *Nosema fumiferanae* in the pre-spray and four post-spray collection.

| | May 14 (pre-spray) | June 5 | June 16 | June 23 | June 30 |
|---|---|---|---|---|---|
| Plot 1 | 48.49 ± 7.3* | 47.6 ± 10.5 | 22.3 ± 8.9 | 50.0 ± 10.6 | 72.9 ± 12.1 |
| Plot 2 | 51.59 ± 8.36 | 66.7 ± 10.4 | 58.6 ± 12.4 | 60.9 ± 11.7 | 67.0 ± 12.5 |
| Check | 48.9 ± 8.2 | 69.6 ± 10.3 | 62.1 ± 12.2 | 66.3 ± 17.0 | 65.6 ± 15.3 |

* represents standard deviation.

Incidence of microsporidian infection remained relatively static in all treated plots and the check plot, with no significant difference observed between the pre- and final post spray percentages (Table 2, Fig.4). However, a significant drop in the incidence of the parasite was observed in plot 1 at the second post–spray sample. Pre- and post-spray samples were not significantly different from each other.

*Population Reduction*

There was no significant difference in the number of second and third instar larvae recovered from emergence boxes holding branches collected for the pre–spray and first post-spray samples (Table 3), or between larval density per 45-cm branches in the final three post-spray samples, except for an unexplained and significant drop in the budworm population in plot 2 as compared to plot 1 on June 23.

*Defoliation*

Examination of balsam fir branch samples indicated no significant difference in the percentage of defoliation between plot 1 (83.9±19.7%), plot 2 (84.0±16.9%) and the check plot (85.9±17.1%).

## CONCLUSION AND DISCUSSION

Application of large quantities of spruce budworm NPV either in a single treatment at the emergence of second instar, or in two applications, with the second at budflush, did not significantly reduce the insect population or protect foliage. Obviously, a major disease epizootic was not initiated even after introducing 5.74 x $10^{12}$ PIBs/ha into a dense population of spruce budworm. Failure to achieve any

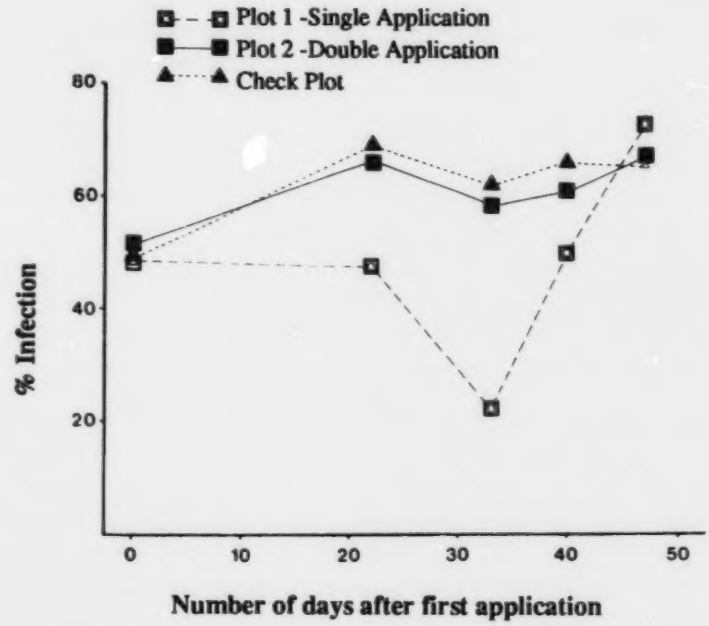



*Figure 4.* Incidence of infection with microsporidia, *Nosema fumiferanae*, observed in spruce budworm samples collected from plot 1, plot 2, and the check plot.

appreciable protection may be the result of several factors; the spruce budworm population density was too high for this type of efficacy trial, application strategies used in this research were not suitable for disseminating NPV, or not enough NPV was introduced to initiate a NPV disease epizootic.

NPV epizootics are a density-dependent phenomenon and are usually the result of a combination of inter-related factors (Entwistle 1986). Although NPV epizootics have been recorded in insect populations at outbreak levels, there is speculation that with a dense host population, conditions are unsuitable for the NPV to become the key factor in population reduction (Kaupp 1981). This probably occurs because the virus is not available as infectious inoculum long enough to initiate the primary infection cycle.

Application of NPV at second instar emergence gave poor results. Any pesticide applied primarily to affect early instar budworm must be accurately timed if it is to be effective. With viruses, this timing is even more critical because the insect is accessible for only a short period prior to needle mining; the virus remains active on the foliage for only three days (Kaupp, unpublished). Early application of NPV should be considered as a viable strategy only after we have acquired a better understanding of how weather influences emergence and dispersal of second instar budworm.

It is impossible to tell if a higher dosage of virus would create an epizootic. From the results of this research trial, it is apparent that a higher dosage of virus did significantly increase the incidence of infection in the spruce budworm population. It is generally accepted that a greater concentration of

*Table 3.* Number of spruce budworm larvae per blasam fir branch on May 14 and June 5, and collected from 45-cm branch-tips on June 16, June 23 and June 30.

| | May 14 (pre-spray) | June 5 | June 16 | June 23 | June 30 |
|---|---|---|---|---|---|
| Plot 1 | 110.4 ± 8.2* | 93.52 ± 7.5 | 33.8 ± 3.1 | 27.2 ± 3.3 | 11.5 ± 1.3 |
| Plot 2 | 99.7 ± 8.8 | 112.4 ± 8.8 | 32.0 ± 2.6 | 13.0 ± 1.5 | 13.9 ± 1.2 |
| Check | 93.2 ± 6.7 | 104.2 ± 8.1 | 29.2 ± 2.5 | 19.3 ± 1.9 | 15.9 ± 1.4 |

* represents standard deviation.

NPV is more effective when used for insect control, but in dealing with a dense population of spruce budworm as in this case, defoliation will inevitably occur because of the 10-14 day incubation period of infection during which the larvae can feed before succumbing to NPV. Nevertheless, this spruce budworm population did have a naturally occurring NPV infection, which increased in incidence only when the larvae were about to pupate. The effect of this infection as a population limiting factor is unknown.

In conclusion, it is noted that little population reduction or foliage protection was achieved after $5.74 \times 10^{12}$ PIBs/ha was introduced into a spruce budworm population. Significant differences in incidence of NPV infection between treated areas were due to differences in the dosage of NPV applied. We recommend that future work be directed at investigating how the naturally occurring NPV infection can be more efficiently used for population reduction; initially by assessing the impact of natural infection on budworm populations and then by manipulating the persistence and infectious nature of the virus to increase its effectiveness as a biocontrol agent.

## REFERENCES


Cadogan, B.L.; Zylstra, B.F.; de Groot, P.; Nystrom, C. 1984. The efficacy of aerially applied Matacil to control spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) in Bathurst, New Brunswick. Can. For. Serv., For. Pest Manage. Inst. Sault Ste. Marie, Ont., Canada. Inf. Rep. FPM-X-64. 33pp.

Cunningham, J.C. 1985. Status of viruses as biological agents for spruce budworms. *In* Symposium: Microbial Control of Spruce Budworms and Gypsy Moths. Northeastern Forest Experiment Station. USDA Forest Service. GTR-NE-100. 175pp.

Cunningham, J.C.; Howse, G.M. 1984. *Choristoneura fumiferana* (Clemens), spruce budworm (Lepidoptera:Tortricidae). B. Viruses: application and assessment. pages 248-259 *in* Kelleher, J.S., and M.A. Hulme (Eds.), Biological Control Programmes against Insects and Weeds in Canada 1969-1980. Commonw. Agric. Bureaux, Slough, U.K.

Entwistle, P.F. 1986. Epizootiology and strategies of microbial control. *in* Fortschritte der Zoologie, *32*; Franz, G. (ed.) Fischer Verlag. New York.

Kaupp, W.J. 1981. Studies on the ecology of the nuclear polyhedrosis virus of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* Geoff. D.Phil. Thesis, University of Oxford, UK.

Kaupp, W.J. 1983. Estimation of nuclear polyhedrosis virus produced in field populations of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) (Hymenoptera:Diprionidae). Can. J. Zool. *61*, 1857-1861.

Martineau, R.; Benoit, P. 1973. A sampling technique for estimating numerical trends in larval populations of insect defoliators on conifers. II. Modification and operational use of the technique for extensive sampling of spruce budworm populations in Quebec. Phytoprotection *54*, 23-31.

McMorran, A. 1965. A synthetic diet for spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera:Tortricidae). Can. Entomol. *97*: 58-62.

Otvos, I.S.; Cunningham, J.C.; Kaupp, W.J. 1989. Aerial application of two baculoviruses against the western spruce budworm, *Choristoneura occidentalis* Freeman (Lepidoptera:Tortricidae), in British Columbia. Can. Entomol. *121*(3): 209-217.

Randall, A.P. 1980. A simple device for collecting aerial–spray deposits from calibration trials and spray operations. Can. For. Serv. Bi-monthly Res. Notes. *36*(5): 23.

Randall, A.P.; McFarlane, J.W.; Zylstra, B.F.; Desaulniers, R. 1981. Assessment of early multiple applications of pesticides on high populations of spruce budworm larvae, *Choristoneura fumiferana* (Clem.), Quebec, 1977. Can. For. Serv., For. Pest Manage. Inst., Sault Ste Marie, Ont., Can. Inf. Rep. FPM-X-42. 78pp.

Retnakaran, A.; Jobin, L.; Buckner, C.H. 1973. Experimental aerial application of a juvenile hormone analog against the eastern hemlock looper, *Lambdina fiscellaria fiscellaria* (Guen.) in Anticosti Island in July 1973. Can. For. Serv., Sault Ste Marie, Ont., Canada. Inf. Rep. IP-X-6, 78pp.

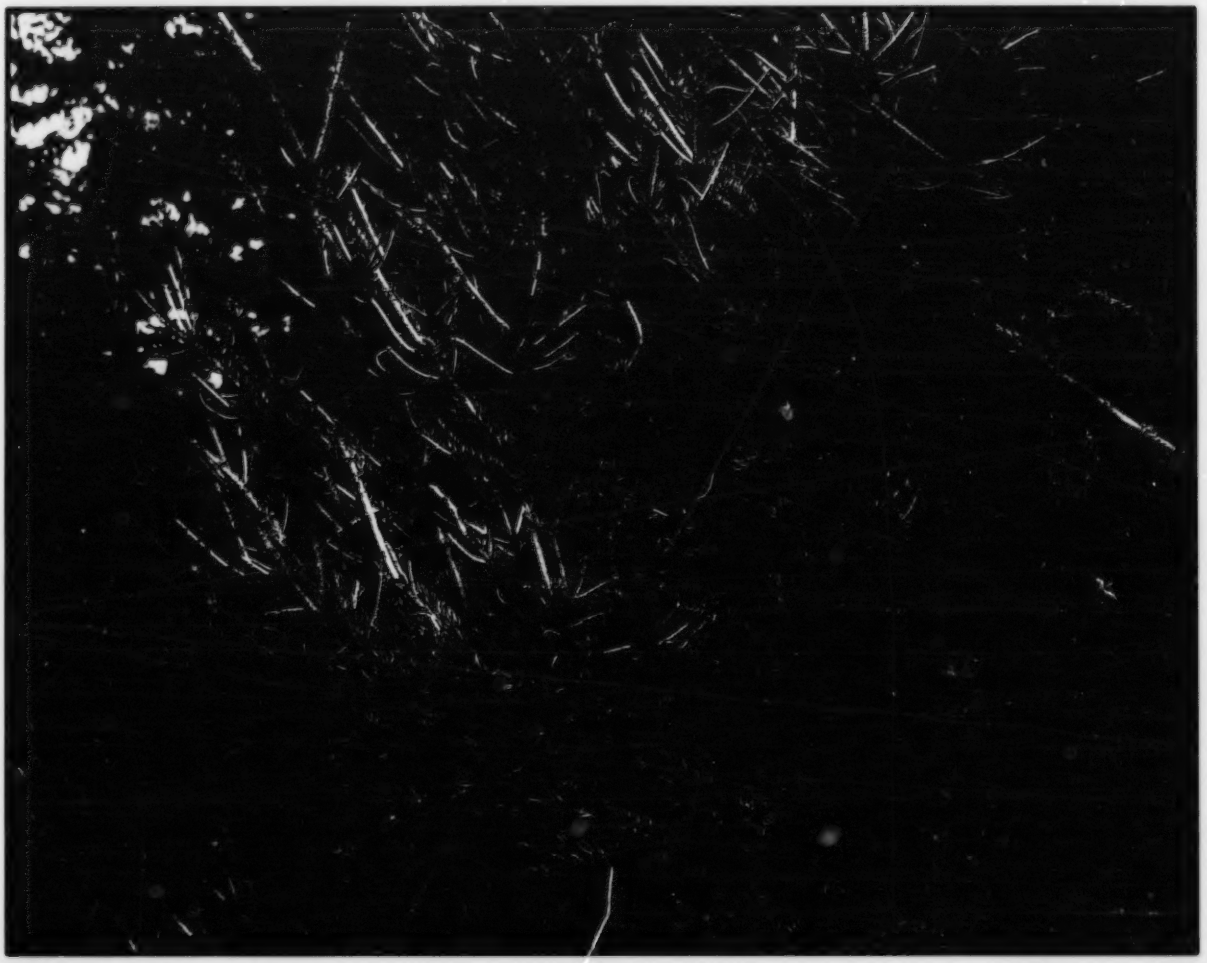
Snedecor, G.W.; Cochran, W.G., 1967. Statistical Methods. Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A. 593pp.

Wigley, P.J. 1980. Counting micro-organisms. *In* "Microbial Control of Insect Pests" (J. Kalmakoff and J.F. Longworth, eds.) 102pp. New Zealand Department of Science and Industrial Research Bulletin 228, Wellington, New Zealand.

# Pulvérisations aériennes à hautes doses de virus de la polyédrose nucléaire pour lutter contre la tordeuse des bourgons de l'épinette *Choristoneura fumiferana* (Clem.) aux premiers stades larvaires

William J. Kaupp, J.C. Cunningham & B.L. Cadogan

Institut pour la répression des ravageurs forestiers • Rapport d'information FPM-X-85



Forêts Canada Forestry Canada

Canada

# PULVÉRISATIONS AÉRIENNES À HAUTES DOSES DE VIRUS DE LA POLYÉDROSE NUCLÉAIRE POUR LUTTER CONTRE LA TORDEUSE DES BOURGEONS DE L'ÉPINETTE, *Choristoneura fumiferana* [Clem.] AUX PREMIERS STADES LARVAIRES

William J. Kaupp, John C. Cunningham & B. Leo Cadogan
Institut pour la répression
des ravageurs forestiers
Fôrets Canada

FPM-X-85

1989

© Ministre des Approvisionnements et Services, Canada, 1990
Numero de catalogue F046-16/85
ISBN 0-662-58314-0
ISSN 0827-1119

—

*Il est possible d'obtenir sans frais des exemplaire s de cette publication auprès des:*

Services d'information
Institut pour la répression des ravageurs forestiers
Forêts Canada
C.P. 490
Sault Ste. Marie, Ont.
Canada P6A 5M7

—

*Des copies ou microfiches de cette publication sont en vente chez:*

Micromédia Ltée
Place du Portage
165, rue Hotel-de-Ville
Hull, Québec J8X 3X2

**TABLE *des* MATIÈRES**


**INTRODUCTION** ..... 1

**MATÉRIEL ET MÉTHODES** ..... 1

*Le virus* ..... 1
*Aire de recherche et disposition des parcelles* ..... 1
*Développement larvaire et phénologie des arbres* ..... 3
*Formulation et pulvérisation* ..... 3
*Conditions d'application* ..... 4
*Échantillonnage des dépôts* ..... 4
*Évaluation de l'efficacité de la pulvérisation : Réduction de la population* ..... 5
*Évaluation de l'efficacité de la pulvérisation :*
*Examen des échantillons d'insectes* ..... 6
*Évaluation de l'efficacité de la pulvérisation : Défoliation* ..... 6
*Analyse statistique* ..... 6

**RÉSULTATS** ..... 6

*Analyse des dépôts* ..... 6
*Taux d'infection par le virus* ..... 7
*Diminution de la population* ..... 8
*Défoliation* ..... 8

**CONCLUSION ET DISCUSSION** ..... 8

**OUVRAGES DE RÉFÉRENCE** ..... 10

Kaupp, W.J.; Cunningham, J.C.; Cadogan, B.L. 1989. Pulvérisations aériennes à haute doses de virus de la polyhédrose nucléaire pour lutter contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette, *Choristoneura fumiferana* [Clem.] aux premiers stades larvaires For. Can, Institut pour la répression des ravageurs forestiers Rapp. Info. FPM-X-85F.

## RÉSUMÉ

2 parcelles de 20 ha situées dans la région de Gaspé au Québec ont été traitées a l'aide de virus de la polyédrose nucléaire (VPN) pour combattre la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* [Clem.]). La parcelle 1 a été soumise a une seule pulvérisation de 1,15 x $10^{12}$ corps d'inclusion polyédrique (CIP)/ha à raison de 4,5 L/ha, au moment ou les larves au deuxième stade émergeaient de leur hibernacle. La parcelle 2 a été soumise a deux pulvérisations de virus; la première, de 3,44 x $10^{12}$ CIP/ha, a été également effectuée au moment ou les larves au deuxième stade émergeaient de l'hibernacle et la deuxième, de 2,3 x $10^{12}$, 26 jours plus tard, après l'eclosion des bourgeons de sapin baumier au moment ou 94% des larves en étaient a leur troisième stade. Les deux traitements ont été appliques à raison de 4,5 L/ha.

Après évaluation de la diminution de la population attribuable au traitement et de la défoliation, il est apparu qu'il n'y avait aucune différence significative (p = 0,05) entre les deux parcelles traitées et une parcelle-témoin non traitée. Toutefois, l'infection par les virus, confirmée par un examen des larves (frottis) au microscope, atteignait 22,9 ± 18,5 % des larves dans la parcelle 2, ce qui est beaucoup plus que dans la parcelle 1 (10,3 ± 13.7 %) ou dans la parcelle-témoin (6.9 ± 14,4 %). L'incidence de l'infection par le parasite microsporidien *Nosema fumiferanae* est demeurée relativement stable dans les trois parcelles, ou environ 60 % des larves ont été infectées. L'infection par les VPN dans la parcelle-témoin a été attribuée a de faibles concentrations naturelles et persistantes des virus.

Ces doses de virus n'ont pas réussi a protéger le feuillage ou à éliminer les insectes en déclenchant une épizootie. La pulvérisation de virus aux premiers stades larvaires de la tordeuse ne semble donc pas constituer une stratégie de lutte viable. Il se pourrait qu'il faille utiliser des doses de virus plus fortes encore pour provoquer des épizooties dans les populations de tordeuses des bourgeons de l'épinette.

## ABSTRACT

Two 20 ha plots located in the Gaspé region of Quebec were treated with spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.), nuclear polyhedrosis virus (NPV). Plot 1 received a single application of 1.15 x $10^{12}$ polyhedral inclusion bodies (PIBs)/ha in an emitted volume of 4.5 L/ha when second instar larvae were emerging from hibernacula. Plot 2 received two applications of NPV. The first treatment of 3.44 x $10^{12}$ PIBs/ha was applied as second instar larvae were emerging from hibernacula; the second treatment of 2.3 X $10^{12}$ PIBs/ha was applied 26 days later, when balsam fir buds had flushed and 94% on the larvae were in their third instar. Both treatments were applied in an emitted volume of 4.5 L/ha.

Assessment of the population reduction due to treatment and defoliation showed no significant differences (p = 0.05) between the two treated plots and an untreated check plot. However, incidence of NPV infection, confirmed by microscopic diagnosis of smeared larvae, reached 22.9 ± 18.5% of larvae infected in plot 2, which was significantly higher than either plot 1 (10.3 ± 13.7%) or the check plot (6.9 ± 14.4%). Incidence of infection with the microsporidian parasite, *Nosema fumiferanae*, remained relatively stable in all three areas with approximately 60% of the larvae infected. NPV infection in the check plot was attributed to a low level, persistent, naturally occurring virus.

These dosages of NPV were unsuccessful in protecting foliage or achieving insect control by initiating an epizootic. Early application of NPV does not appear to be a viable control strategy. Even higher dosages of NPV may be required to initiate epizootics in spruce budworm populations.

## INTRODUCTION

Des virus de la polyédrose nucléaire (VPN) ont été utilisés entre 1959 et 1981 dans la lutte contre les populations de tordeuses des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* [Clem.]) afin d'évaluer certains paramètres, comme la chronologie d'application, la dose et la composition de la formulation (Cunningham et Howse, 1984; Cunningham, 1985). Cette recherche a montré que les VPN ne constituent pas une solution simple au problème posé par la tordeuse des bourgeons de l'épinette au Canada. D'après les données recueillies, il apparaît que, bien que les VPN s'établissent dans la population traitée, ils ne se propagent pas à l'extérieur de l'aire de recherche par voie d'épizootie et ne persistent pas d'une année à l'autre de façon à causer une mortalité suffisante chez les insectes. Des études sur la présence naturelle d'épizooties causées par les VPN chez certaines tenthrèdes indiquent que des quantités massives de virus sont libérées dans le milieu, ce qui influe autant sur le potentiel d'épizootie que sur la persistance du virus d'une année à l'autre (Kaupp, 1983). Aucune épizootie de VPN n'a été observée dans les populations de tordeuses des bourgeons de l'épinette et, vraisemblablement, tout VPN présent persiste à faibles concentrations. C'est pourquoi nous avons décidé de traiter la tordeuse des bourgeons de l'épinette dès les premiers stades larvaires avec des doses substantielles de VPN, au moment de l'émergence et, encore une fois, au moment du débourrement, afin d'essayer de provoquer une épizootie susceptible de réduire relativement la population et de protéger le feuillage.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### *Le virus*

Le VPN de la tordeuse des bourgeons de l'épinette a été produit à l'Institut pour la répression des ravageurs forestiers (IRRF). Des larves de tordeuse au quatrième stade ont été infectées avec le VPN par traitement en surface de leurs aliments (régime artificiel) (McMorran, 1965) et élevées jusqu'à la fin de leur cycle biologique (Otvos et collab., 1989). Les larves infectées ont été recueillies, congelées, lyophilisées et broyées en une fine poudre à l'aide d'un mélangeur de type commercial. Cette poudre, qui contient le VPN de la tordeuse des bourgeons de l'épinette, était l'ingrédient actif utilisé dans les opérations de pulvérisation.

Une partie des virus ont été produits en infectant des tordeuses occidentales de l'épinette (*Choristoneura occidentalis*) avec le VPN de la tordeuse des bourgeons de l'épinette à cause des quantités massives de matières requises. Cette espèce est en effet plus facile à traiter parce qu'elle produit moins de cocons dans les contenants d'élevage. Le virus obtenu à partir de ces insectes est identique au VPN de la tordeuse des bourgeons de l'épinette utilisée pour l'inoculation. Toutes les préparations ont été normalisées en déterminant le nombre de corps d'inclusion polyédrique par gramme de matière sèche (CIP/g) à l'aide de la procédure de dénombrement à sec (Wigley, 1980).

### *Aire de recherche et disposition des parcelles*

C'est dans la région de Gaspé, au Québec, qu'on a trouvé des infestations convenables de tordeuses des bourgeons de l'épinette. Les deux parcelles traitées (20 ha chacune) et une parcelle-témoin étaient situées près des routes d'accès à la forêt, environ 15 km au sud-est de Saint-Fabien (Québec) (figure 1). Les parcelles traitées se trouvaient à environ 5 km des parcelles de pulvérisation provinciales 109, 601 et 201.

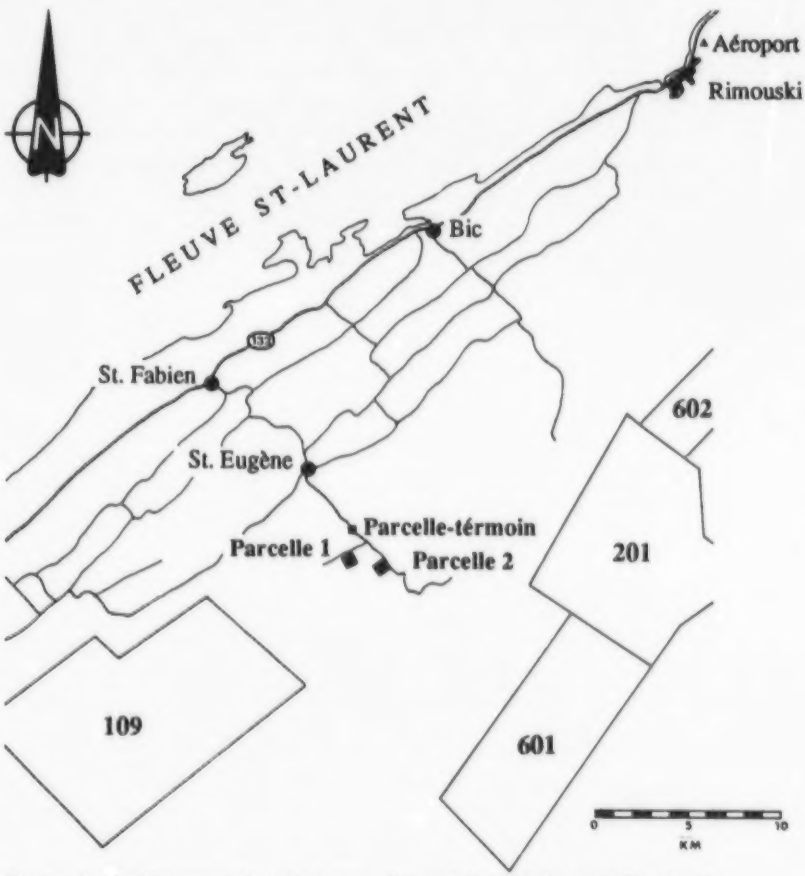



*Figure 1.* Emplacement des deux parcelles traité's et de la parcelle-témoin.

*Développement larvaire et phénologie des arbres*

Le développement larvaire a été évalué en déterminant le stade de toutes les larves trouvées sur 5 branches prélevées périodiquement dans chaque parcelle.

15 sapins baumiers de 8 à 12 m de hauteur se trouvaient dans chacune des trois lignes d'échantillonnage perpendiculaires aux bandes d'épandage proposées dans chaque parcelle (figure 2). Des cartes Kromekote ont été placées le long des lignes d'échantillonnage déboisées et près de chaque arbre-échantillon afin d'évaluer les dépôts. Pendant la pulvérisation, les limites des parcelles et les bandes traitées ont été marquées à l'aide de gros ballons météorologiques rouges. Un secteur-témoin comprenant 45 sapins baumiers a été choisi à proximité.

Le temps nécessaire à l'émergence des larves sur les branches a été fixé à la suite d'une inspection visuelle des feuilles dans toute la parcelle. On a également examiné les branches pour déterminer le débourrement, défini comme le moment où 90 % des bourgeons se sont débarrassés de leur gangue.

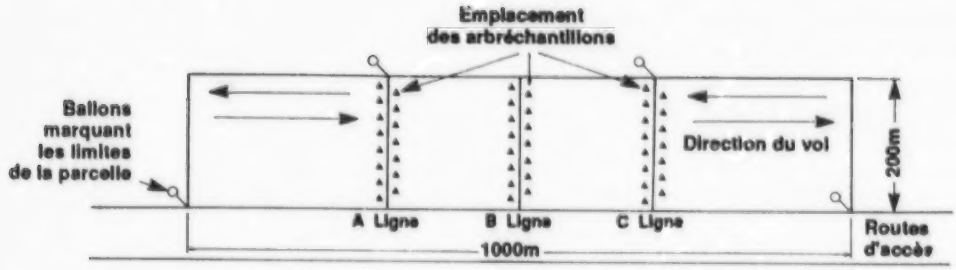



*Figure 2.* Parcelles de 20 ha avec emplacement des trois lignes d'échantillonnage comprenant chacune 15 arbres; les lignes d'échantillonnage étaient perpendiculaires à l'axe de vol.

*Formulation et pulvérisation*

Une dose de $1,0 \times 10^{12}$ CIP/ha, la plus forte dose jamais appliquée à des populations de tordeuses, a été choisie pour le traitement de la parcelle 1. On a présumé que les tordeuses émergeant de l'hibernacle étaient plus vulnérables au VPN que les larves plus âgées et seraient infectées plus facilement lorsqu'elles s'attaquent aux aiguilles contaminées par le VPN. La mort de ces larves devait fournir l'inoculum nécessaire pour déclencher une épizootie causée par le VPN dans la population de tordeuses. On prévoyait traiter la parcelle 2 une première fois avec une dose trois fois plus élevée ($3,0 \times 10^{12}$ CIP/ha), au moment où les larves émergeaient, et une deuxième fois avec une dose double ($2,0 \times 10^{12}$ CIP/ha), au moment du débourrement afin de tenter de provoquer une épizootie en inondant l'environnement de VPN.

La poudre a été appliquée dans une formulation à base d'huile émulsifiable à 25 %. La matière provenant des insectes lyophilisés a été mélangée à un support à base d'huile gélifiée au Dipel 88 (Abbott Laboratories) à l'aide d'un homogénéiseur turbo Kalish, puis passée dans un tamis de maille 40. Avant la pulvérisation, le mélange huile-virus a été ajouté à une quantité convenue d'eau et pompé dans la trémie de l'avion. Erio Acid Red XB 400 a été ajouté à raison de 1 g/L comme marqueur pour l'analyse du dépôt. Des échantillons ont été prélevés dans le réservoir afin de confirmer la concentration de CIP dans chaque formulation.

Un Cessna 188B Agtruck équipé de 4 atomiseurs rotatifs Micronair AU 3000 a servi aux épandages. Les restricteurs variables ont été fixés à 4 et l'angle des lames à 30° afin d'obtenir un taux de pulvérisation de 4,5 L/ha. L'avion volait à une hauteur de 18 à 20 m au-dessus du sommet des arbres; la largeur de la bande traitée était de 30 m. Les données météorologiques ont été recueillies pendant l'opération.

*Conditions d'application*

La parcelle 2 a reçu une première application de VPN entre 18 h 32 et 18 h 36 le 14 mai, au moment de l'apparition, en petit nombre, de tordeuses au deuxième stade larvaire dans le feuillage. La vitesse du vent atteignait en moyenne 9 km/h, l'humidité relative était de 63 % et la température au sol de 17° C. Le taux d'application était de $3,44 \times 10^{12}$ CIP/ha, confirmé par l'analyse des échantillons du réservoir. La parcelle 1 a été traitée avec une dose de $1,15 \times 10^{12}$ CIP/ha le même soir, entre 19 h 21 et 19 h 26, l'humidité relative était de 76 % et la vitesse du vent de 2 km/h. Le 9 juin, soit 26 jours plus

tard, la parcelle 2 recevait une deuxième application de 2,3 x $10^{12}$ CIP/ha, après le débourrement des sapins baumiers et au moment où 94 % des larves en étaient à leur troisième stade. Le virus a été appliqué entre 20 h 35 et 20 h 41, l'humidité relative était de 62 % et la vitesse du vent de 3 km/h. La température au sol était de 10° C.

*Table 1.* Pourcentage de larves de tordeuses des bourgeons de l'épinette qui étaient infectées par le VPN dans les échantillons prélevés avant et après les pulvérisations. Les chiffres entre parenthèses indiquent la taille de l'échantillon.

| | mai 14 (avant pulvérisation) | 5 juin | 16 juin | 23 juin | 30 juin |
|---|---|---|---|---|---|
| Parcelle 1 | 1.38 ± 1.33* (7880) | 5.5 ± 5.24 (1637) | 5.5 ± 5.4 (952) | 4.3 ± 4.9 (755) | 10.3 ± 13.7 (647) |
| Parcelle 2 | 1.09 ± 1.29 (7022) | 4.13 ± 3.61 (9198) | 2.7 ± 4.5 (2872) | 15.1 ± 16.2 (1430) | 22.9 ± 18.5 (1142) |
| Témoin | 1.74 ± 1.66 (7498) | 1.53 ± 1.42 (8608) | 0.41 ± 0.87 (2219) | 1.9 ± 3.9 (1884) | 6.86 ± 14.4 (1246) |

* Représente l'écart-type.

*Échantillonnage des dépôts*

Des cartes Kromekote et des plaques de verre montées sur support d'aluminium ont été installées sur des piquets à côté de chaque arbre-échantillon (Randall, 1980). Après un délai de 30 minutes pour permettre aux gouttelettes de se déposer, les dispositifs d'échantillonnage ont été ramassés dans les parcelles traitées. L'analyse des cartes Kromekote a servi à caractériser le nuage de pulvérisation, et celle des dépôts sur les plaques de verre à confirmer les taux d'application (Retnakaran et collab., 1973).

*Évaluation de l'efficacité de la pulvérisation : Réduction de la population*

La diminution de la population attribuable au traitement a été évaluée à partir de 1 échantillon prélevé avant les pulvérisations, le 14 mai, et de 4 autres prélevés après les 5, 16, 23 et 30 juin. Pour déterminer le nombre de larves de tordeuses des bourgeons de l'épinette qui se trouvaient dans les parcelles, 2 branches de 90 cm ont été prélevées à mi-couronne sur chaque arbre-échantillon avant les pulvérisations et lors du premier échantillonnage qui a suivi, puis ont été placées dans des boîtes d'émergence (Randall et collab., 1981). D'après le nombre de tordeuses au deuxième stade larvaire qui se trouvaient dans ces boîtes, on a établi le nombre de tordeuses susceptibles de se déplacer vers les limites extérieures des branches plus tard dans la saison. Ces valeurs ont été vérifiées sur des échantillons subséquents.

Les trois derniers échantillons prélevés après les pulvérisations consistaient en 2 branches de 45 cm prélevées sur chaque arbre et égrenées dans des cylindres de carton pour en extraire les larves de tordeuses (Martineau et Benoît, 1973). Le nombre total de larves provenant de chaque branche des échantillons prélevés avant et après les pulvérisations a été relevé et mis en moyenne pour obtenir une

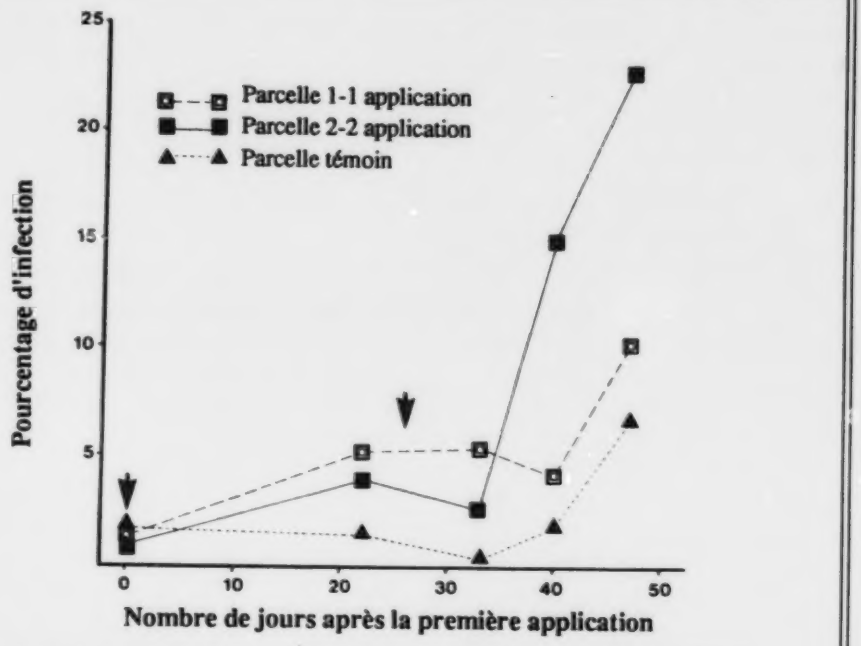



*Figure 3.* Cas d'infection par le VPN observés dans les échantillons de larves de tordeuses des bourgons de l'épinette prélevés dans les parcelles 1, 2 et témoin. Les flèches indiquent les pulvérisations.

estimation de la population de chaque arbre. Les densités de population des parcelles traitées et de la parcelle-témoin ont été calculées en mettant en moyenne les données provenant des 45 arbres-échantillons.

*Évaluation de l' efficacité de la pulvérisation : Examen des échantillons d' insectes*

L'incidence du VPN a été évaluée en décelant la présence de CIP sur des frottis d'insectes colorés. Les larves prélevées dans les parcelles traitées ainsi que dans la parcelle–témoin ont été écrasées en conditions aseptiques sur des plaques de verre à l'aide de cure-dents, et les frottis ainsi obtenus ont été séchés à l'air. Ces frottis ont été colorés à l'aide d'une solution à 1,5 % poids/poids de Naphthalene Black 12B dans de l'acide acétique glacial à 40 %, à une température de 40 à 45° C. Après 5 minutes, les plaques étaient retirées de la solution, rincées à l'eau courante et séchées à l'air. Chaque frottis a été examiné à l'aide d'un microscope à immersion. Les frottis contenant le parasite microsporidien *Nosema fumiferanae* ont également été recensés.

Toutes les larves trouvées dans les échantillons de la parcelle 2 et de la parcelle–témoin ont été examinées pour y déceler toute infection par le VPN ainsi que la présence de microsporidiens. Dans la parcelle 1, toutes les larves prélevées avant la pulvérisation et environ 20 larves de chaque arbre des échantillons prélevés après ont été examinées. Tous les résultats sur l'infection ont été exprimés en moyenne pour chaque parcelle et accompagnés des écarts-types.

*Évaluation de l'efficacité de la pulvérisation : Défoliation*

2 branches de chaque arbre ont été prélevées dans les parcelles traitées et la parcelle-témoin. La défoliation attribuable à la tordeuse des bourgeons de l'épinette a été évaluée à l'aide de la méthode de Fettes modifiée (Cadogan et collab., 1984).

*Analyse statistique*

Des tests de signification (p = 0,05) ont été effectués à l'aide de la méthode de la variance groupée décrite par Snedecor et Cochran (1967).

*Tableau 2.* Pourcentage de larves de tordeuse des bourgons de l'épinette infectées par *Nosema fumiferanae* dans les échantillons prélevés avant et après les pulvérisations.

| | 14 mai (avant pulvérisation) | 5 juin | 16 juin | 23 juin | 30 juin |
|---|---|---|---|---|---|
| Parcelle 1 | 48.49 ± 7.3* | 47.6 ± 10.5 | 22.3 ± 8.9 | 50.0 ± 10.6 | 72.9 ± 12.1 |
| Parcelle 2 | 51.59 ± 8.36 | 66.7 ± 10.4 | 58.6 ± 12.4 | 60.9 ± 11.7 | 67.0 ± 12.5 |
| Témoin | 48.9 ± 8.2 | 69.6 ± 10.3 | 62.1 ± 12.2 | 66.3 ± 17.0 | 65.6 ± 15.3 |

*Représente l'écart-type.

## RÉSULTATS

*Analyse des dépôts*

L'analyse des cartes Kromekote révèle que la parcelle 1 a reçu en moyenne 34±16 gouttes/cm$^2$, le VMD étant de 57 mm et le NMD de 18 mm. Des deux pulvérisations effectuées dans la parcelle 2, la première a été la plus efficace, résultant en 99 gouttes/cm$^2$, le VMD étant de 67 mm et le NMD de 20 mm. La deuxième application a donné 44 gouttes/cm$^2$, le VMD était de 69 mm et le MMD de 51 mm. L'analyse spectrophotométrique des dépôts sur les plaques de verre a révélé que ceux-ci étaient relativement faibles dans les deux parcelles, la parcelle 1 recevant 0,54±0,35 L/ha, et la parcelle 2 0,16±0,23 L/ha pour la première application et 0,16±0,14 L/ha pour la deuxième.

*Taux d'infection par le virus*

Les échantillons de larves recueillis avant les traitements ne révèlent qu'une faible présence de VPN d'origine naturelle dans les deux parcelles traitées et dans la parcelle-témoin. Dans les parcelles 1 et 2, 1,38±1,33 % et 1,09±1,29 % des larves au deuxième stade se sont révélées infectées par le virus, tandis que 1,74±1,66 % l'étaient dans la parcelle-témoin (tableau 1, figure 3). Ces valeurs ne sont pas significativement différentes. Des VNP d'origine naturelle ont continué à être observés dans le secteur-témoin pendant 3 échantillonnages consécutifs effectués après les pulvérisations, mais à des

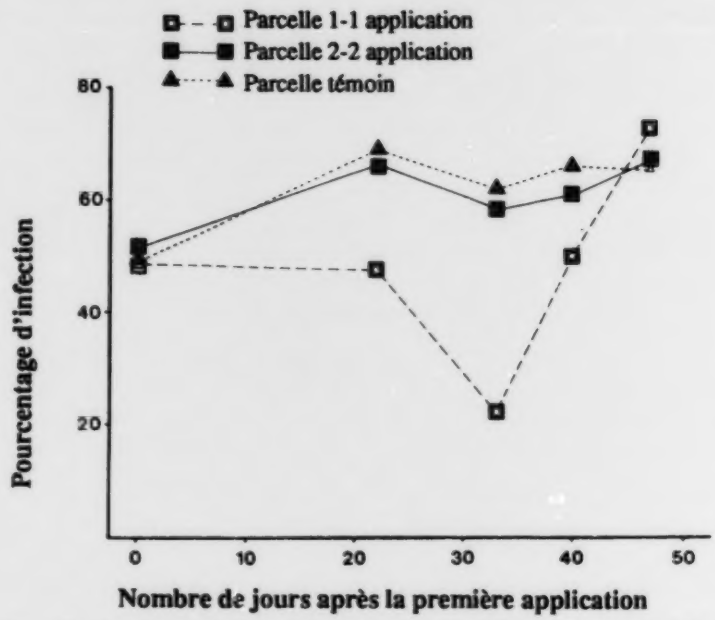



*Figure 4.* Cas d'infection par le parasite microsporidiens, *Nosema fumiferanae*, observées dans les echantillons de larves de tordeuses des bourgeons de l'épinette prélevés dans les parcelles 1, 2 et témoin.

teneurs significativement inférieures à celles relevées dans les parcelles traitées. Dans l'échantillon final, prélevé 47 jours après les pulvérisations, 6,86±14,4 % des insectes de la parcelle-témoin étaient infectés par le VNP d'origine naturelle.

Le taux d'infection par le VNP dans les parcelles traitées s'est révélé significativement plus élevé que dans la parcelle non traitée, à l'exception des deux derniers échantillons prélevés dans la parcelle 1. Les taux d'infection des applications unique et double ne différaient de façon significative que dans les deux derniers échantillons (figure 3).

Le taux d'infection microsporidienne est demeuré relativement stable dans les parcelles traitées et dans la parcelle-témoin, aucune différence significative n'ayant été observée entre les pourcentages antérieurs et postérieurs aux pulvérisations (tableau 2, figure 4). Toutefois, une baisse significative dans l'incidence du parasite a été observée dans la parcelle 1 dans la deuxième série d'échantillons prélevés après les pulvérisations. Les échantillons prélevés avant et après les pulvérisations ne différaient pas de façon significative les uns des autres.

### *Diminution de la population*

Aucune différence significative n'a été observée dans le nombre de larves de deuxième et de troisième stade trouvées dans les boîtes d'émergence contenant les branches prélevées dans les échantillonnages antérieurs et postérieurs aux pulvérisations (tableau 3), ou entre la densité de larves par branche de 45

cm dans les trois derniers échantillons après pulvérisation, à part une diminution significative et encore inexpliquée de la population des tordeuses de la parcelle 2 comparativement à la parcelle 1 le 23 juin.

*Défoliation*

L'examen des échantillons de branches de sapin baumier n'a révélé aucune différence significative dans le pourcentage de défoliation entre la parcelle 1 (83,9±19,7 %), la parcelle 2 (84,0±16,9 %) et la parcelle-témoin (85,9±17,1 %).

*Tableau 3.* Nombre de larves de tordeuse des bourgeons de l'épinette par branche de sapin baumier (14 mai et 5 juin) et nombre des larves recueilles sur les bouts de branches de 45 cm (16, 23 et 30 juin)

| | 14 mai (avant pulvérisation) | 15 juin | 16 juin | 23 juin | 30 juin |
|---|---|---|---|---|---|
| Plot 1 | 110.4 ± 8.2* | 93.52 ± 7.5 | 33.8 ± 3.1 | 27.2 ± 3.3 | 11.5 ± 1.3 |
| Plot 2 | 99.7 ± 8.8 | 112.4 ± 8.8 | 32.0 ± 2.6 | 13.0 ± 1.5 | 13.9 ± 1.2 |
| Check | 93.2 ± 6.7 | 104.2 ± 8.1 | 29.2 ± 2.5 | 19.3 ± 1.9 | 15.9 ± 1.4 |

* Représente l'écart-type

## CONCLUSION ET DISCUSSION

L'application de quantités massives de VPN de la tordeuse des bourgeons de l'épinette en un seul traitement au moment de l'émergence des larves de deuxième stade, ou en deux traitements, le deuxième étant effectué au moment du débourrement, n'a permis ni de réduire de façon significative la population d'insectes, ni de protéger le feuillage. De toute évidence, aucune épizootie importante n'a été provoquée même après l'introduction de $5,74 \times 10^{12}$ CIP/ha dans une population dense de tordeuses des bourgeons de l'épinette. Cet échec peut être attribué à plusieurs facteurs: la densité de la population de tordeuses était peut-être trop élevée pour ce type d'essai d'efficacité, les stratégies d'application utilisées pour la recherche ne convenaient peut-être pas à la dissémination du VPN, ou la quantité de VPN introduite n'était pas suffisante pour déclencher une épizootie virale.

Les épizooties virales sont des phénomènes dépendant de la densité et sont habituellement causées par une combinaison de facteurs inter reliés (Entwistle, 1986). Bien que des épizooties déclenchées par le VPN aient été relevées dans les populations d'insectes au moment d'une invasion, il semble qu'en présence d'une population-hôte dense certaines conditions font que le VPN ne puisse devenir un facteur-clé dans la réduction des populations (Kaupp, 1981). Ce phénomène est probablement dû au fait que le virus ne demeure pas assez longtemps à l'état d'inoculum infectieux pour provoquer le cycle d'infection primaire.

L'application du VPN au moment de l'émergence du deuxième stade larvaire a donné de mauvais résultats. Toute application de pesticide ayant pour but principal de s'attaquer à la tordeuse aux

premiers stades larvaires doit se faire selon une chronologie précise pour être efficace. Avec des virus, cette chronologie est encore plus importante étant donné que l'insecte n'y est vulnérable que pendant une courte période avant de miner les aiguilles; les virus ne sont actifs sur les feuilles que pendant 3 jours (Kaupp, inédit). L'application hâtive de VPN ne devrait donc être envisagée comme stratégie viable qu'une fois que nous comprendrons mieux comment le temps influe sur l'émergence et la dispersion des tordeuses au deuxième stade larvaire.

Il est impossible de dire si une dose plus forte de virus entraînerait une épizootie. D'après les résultats obtenus dans la présente recherche, il semble que cela puisse accroître significativement le taux d'infection dans la population de tordeuses. On admet en général qu'une concentration plus élevée de VPN est plus efficace pour lutter contre les insectes, mais dans le cas de populations denses de tordeuses des bourgeons de l'épinette, comme c'est le cas ici, la défoliation a inévitablement lieu étant donné qu'il y faut une période d'incubation de 10 à 14 jours, pendant laquelle les larves peuvent se nourrir, avant que les insectes succombent au virus. Néanmoins, cette population de tordeuses était déjà frappée par une infection par des VPN d'origine naturelle, ce qui n'a augmenté le taux d'infection que lorsque les larves étaient sur le point de se nymphoser. L'effet de cette infection comme facteur limitatif de la population est inconnu.

En conclusion, il ressort que l'introduction de $5,74 \times 10^{12}$ CIP/ha dans une population de tordeuses des bourgeons de l'épinette n'a permis d'obtenir qu'une faible réduction de population et une mauvaise protection du feuillage. Les différences significatives dans le taux d'infection par le VNP entre les parcelles traitées étaient dues à des différences dans la dose de VPN appliquée. Nous recommandons donc que les futurs travaux consistent plutôt à trouver des façons d'utiliser plus efficacement les infections par les VPN d'origine naturelle pour réduire les populations, d'abord en évaluant l'impact de l'infection naturelle des populations de tordeuses, puis en essayant de jouer sur la persistance et la nature infectieuse du virus en vue d'en augmenter l'efficacité comme agent de contrôle biologique.

## OUVRAGES DE RÉFÉRENCE

Cadogan, B.L.; Zylstra, B.F.; deGroot, P.; Nystrom, C. 1984. The efficacy of aerially applied Matacil to control spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) in Bathhurst, New Brunswick. Can. For. Serv., For. Pest Manage. Inst., Sault Ste. Marie, Ont. Inf. Rep. FPM-X-64. 33 p.

Cunningham, J.C. 1985. Status of viruses as biological agents for spruce budworms. In Symposium: Microbial Control of Spruce Budworms and Gypsy Moths. Northeastern Forest Experiment Station. US. Dep. Agric. For. Serv. GTR-NE-100. 175 p.

Cunningham, J.C.; Howse, G.M. 1984. *Choristoneura fumiferana* (Clemens), spruce budworm (Lepidoptera:Tortricidae). B. Viruses: application and assessment. Pages 248-259 in J.S. Kelleher and M.A. Hulme, eds. Biological Control Programmes against Insects and Weeds in Canada 1969-1980. Commonw. Agric. Bur., Slough, UK.

Entwistle, P.F. 1986. Epizootiology and strategies of microbial control. In G. Franz, ed. Fortschritte der Zoologie, 32. Fischer Verlag, New York, NY.

Kaupp, W.J. 1981. Studies on the ecology of the nuclear polyhedrosis virus of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* Geoff. Ph.D. Thesis, Univ. Oxford, UK.

Kaupp, W.J. 1983. Estimation of nuclear polyhedrosis virus produced in field populations of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoff.) (Hymenoptera:Diprionidae). Can. J. Zool. 61: 1857-1861.

Martineau, R.; Benoit, P. 1973. A sampling technique for estimating numerical trends in larval populations of insect defoliators on conifers. II. Modification and operational use of the technique for extensive sampling of spruce budworm populations in Quebec. Phytoprotection 54:23-31.

McMorran, A. 1965. A synthetic diet for spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera:Tortricidae). Can. Entomol. 97:58-62.

Otvos, I.S.; Cunningham, J.C.; Kaupp, W.J. 1989. Aerial application of two baculoviruses against the western spruce budworm, *Choristoneura occidentalis* Freeman (Lepidoptera:Tortricidae), in British Columbia. Can. Entomol. 121(3):209-217.

Randall, A.P. 1980. A simple device for collecting aerial-spray deposits form calibration trials and spray operations. Can. For. Serv. Bi-monthly Res. Notes. 36 (5):23.

Randall, A.P.; McFarlane, J.W.; Zylstra, B.F.; Desaulniers, R. 1981. Assessment of early multiple applications of pesticides on high populations of spruce budworm larvae, *Choristoneura fumiferana* (Clem.), Quebec, 1977. Can. For. Serv., For. Pest Manage. Inst., Sault Ste. Marie, Ont., Inf. Rep. FPM-X-42. 78 p.

Retnakaran, A.; Jobin, L.; Buckner, C.H. 1973. Experimental aerial application of a juvenile hormone analog against the eastern hemlock looper, *Lambdina fiscellaria fiscellaria* (Guen.) in Anticosti Island in July 1973. Can. For. Serv., Sault Ste. Marie, Ont., Inf. Rep. IP-X-6, 78 p.

Snedecor, G.W.; Cochran, W.G., 1967. Statistical Methods. Iowa State University Press, Ames, IA. 593 p.

Wigley, P.J. 1980. Counting micro-organisms. In J. Kalmakoff and J.F. Longworth, eds. Microbial Control of Insect Pests. 102 p. New Zealand Department of Science and Industrial Research Bulletin 228, Wellington, New Zealand.